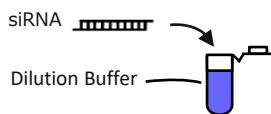
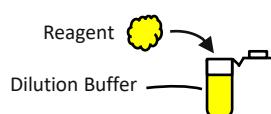


ScreenFect™A plus トランスフェクションプロトコール 細胞によってsiRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

## 1-Step法 (リバーストランスクレッショング法)

時間

1



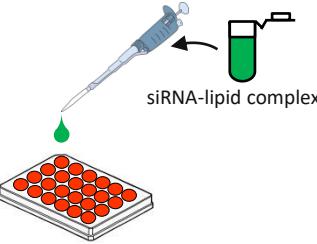
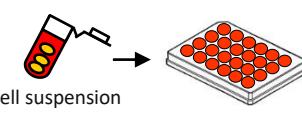
2



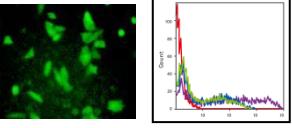
Day 0



4



5



実験工程

Dilution BufferにScreenFect™A plus Reagent※1を添加する。  
十分に混合する。  
※1 添加前にボルテックスミキサーで十分混合する。

Dilution BufferにsiRNAを添加する。  
十分に混合する。

希釈済みScreenFect™A plus Reagentと  
希釈済みsiRNA溶液を混合する。  
5分間以上室温でインキュベートする。  
\*③以下の細胞懸濁液の調製とウェルプレートへの播きこみが完了するまでインキュベート可

トランスフェクションに必要な細胞を用意する。

トリプシンやAccutase®をもじいて細胞を剥離し、細胞懸濁液を調製する。  
ウェルプレートや培養シャーレに必要細胞数播く。

工程2で調製したsiRNA-lipid complexを上記工程で細胞懸濁液を添加した培養プレートに添加する。

蛍光観察、フローサイトメトリーなど各種手法によりトランスフェクション細胞を解析する。

プロトコール 詳細

コンポーネント	96-well	24-well	12-well	6-well
Dilution Buffer for ScreenFect™A plus	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
ScreenFect™A plus Transfection Reagent	0.1 - 0.3 µL	0.5 - 1.5 µL	1.0 - 3.0 µL	2.5 - 7.5 µL
Dilution Buffer for ScreenFect™A plus	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
siRNA	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
希釈済み siRNA	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
希釈済み ScreenFect™A plus Transfection Reagent	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
接着細胞 or 浮遊細胞	1.0-4.0 × 10 <sup>4</sup>	0.5-2.0 × 10 <sup>5</sup>	1.0-4.0 × 10 <sup>5</sup>	0.25-1.0 × 10 <sup>6</sup>
細胞剥離 (Trypsin or Accutase®)				
最終組成 [/well]	96-well	24-well	12-well	6-well
siRNA-lipid complex 量	10 µL	50 µL	100 µL	250 µL
siRNA 量	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA
ScreenFect™A plus Transfection Reagent 量	0.1 - 0.3 µL	0.5 - 1.5 µL	1.0 - 3.0 µL	2.5 - 7.5 µL
培地量	100 µL	500 µL	1000 µL	2000 µL
1-3 日間、37°Cで細胞を培養し、目的に応じてアッセイを行う。				
For support, please visit the <a href="https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html">https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html</a>				



ScreenFect™A plus トランスフェクションプロトコール 細胞によってsiRNAとトランスフェクション試薬の最適な混合比が異なります。数パターンの混合比を検討のうえ、最適な混合比の検証を推奨いたします。

## 2-Step法 (フォワードトランスフェクション法)

時間		実験工程	プロトコール 詳細				
1 Day 0	Pre-Cultured cells	トランスフェクション前に、細胞を70-90 % コンフルエントまで培養する。	コンポーネント	96-well	24-well	12-well	6-well
2	Dilution Buffer Reagent Dilution Buffer siRNA Dilution Buffer	Dilution BufferにScreenFect™A plus Reagent※1を添加する。 十分に混合する。 ※1 添加前にボルテックスミキサーで十分混合する。  Dilution BufferにsiRNAを添加する。 十分に混合する。	接着細胞 or 浮遊細胞	1.0-4.0 × 10 <sup>4</sup>	0.5-2.0 × 10 <sup>5</sup>	1.0-4.0 × 10 <sup>5</sup>	0.25-1.0 × 10 <sup>6</sup>
3 Day 1	siRNA-lipid complex	希釈済みScreenFect™A plus Reagentと希釈済みsiRNA溶液を混合する。 5分間以上室温でインキュベートする。※2 ※2 推奨時間:15~20分	Dilution Buffer for ScreenFect™A plus	5 µL	25 µL	50 µL	125 µL
4	siRNA-lipid complex	siRNA-lipid complexを前培養細胞のウェルに添加する。	ScreenFect™A plus Transfection Reagent	0.1 µL	0.5 µL	1.0 µL	2.5 µL
5 Day 2~	蛍光観察、フローサイトメトリーなど各種手法によりトランスフェクション細胞を解析する。	最終組成 [/well]	96-well	24-well	12-well	6-well	
		siRNA-lipid complex 量	10 µL	50 µL	100 µL	250 µL	
		siRNA 量	1 pmol siRNA	5 pmol siRNA	10 pmol siRNA	25 pmol siRNA	
		ScreenFect™A plus Transfection Reagent 量	0.1 µL	0.5 µL	1.0 µL	2.5 µL	
		培地量	100 µL	500 µL	1000 µL	2000 µL	
1-3日間、37°Cで細胞を培養し、目的に応じてアッセイを行う。							
For support, please visit the <a href="https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html">https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01505.html</a>							

